

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM, München
(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

PHASENKONTRASTMIKROSKOPISCHE BEOBACHTUNG
ZUM PHÄNOMEN DER ZEIOSIS
AN MENSCHLICHEN KNOCHENMARKZELLEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Barbara Maria Münch, geb. Gostomczik

aus Stegers/Schlochau

1971

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln

(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF, Assoziation
mit EURATOM, München

(Leiter: Prof. Dr. W. Stich)

PHASENKONTRASTMIKROSKOPISCHE BEOBACHTUNG ZUM PHÄNOMEN

DER ZEIOSIS AN MENSCHLICHEN KNOCHENMARKZELLEN

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Barbara Maria Münch, geb. Gostomczik

aus Stegers/Schlochau

Referent: Frau Professor Dr. med. I. Boll

Korreferent: Herr Professor Dr. med. Hans-Joachim Merker



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 14.7.1971

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	Seite	1
Problemstellung	Seite	15
Material und Methode	Seite	16
Ergebnisse	Seite	18
Diskussion und Besprechung der Ergebnisse	Seite	47
Zusammenfassung	Seite	53
Literaturverzeichnis	Seite	54



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EINLEITUNG

Die Kenntnisse morphologischer Einzelheiten der Cytodynamik sind bis heute noch sehr begrenzt, obgleich im Verlauf der letzten Jahrzehnte neue technische Hilfsmittel wie das Phasenkontrastmikroskop, die kinematographische Dokumentation und das Elektronenmikroskop zur Verfügung stehen. Gerade in der Haematologie, die zwar morphologisch gut erforscht wurde, scheinen cytodynamische Vorgänge menschlicher Blut- und Knochenmarkzellen das Stiefkind zu bleiben. Für den an fixierte Präparate gewöhnten Morphologen ist es schwierig, von der Vorstellung der Zelle als einem starren System loszukommen und sie als ein in morphologischer und funktioneller Hinsicht dynamisches System aufzufassen. ZERNICKE entwickelte 1933/34 das Phasenkontrastmikroskop. Diese Technik gestattet es, lebende Zellen in ihrem physiologischen Milieu einer kontinuierlichen Beobachtung in der Zellkultur zuzuführen.

Die Verbindung des Phasenkontrastmikroskopes mit der kinematographischen Technik erschließt neue Erkenntnisquellen: Mit den Filmdokumenten lassen sich Veränderungen morphologischer Fakten in der Zeiteinheit objektiv ermitteln und dokumentieren.

Die Grenze der Methode liegt einmal im Auflösungsvermögen des Mikroskopes und in der Kulturtechnik, bei der es gilt, den Zelltod durch angepasste Medien möglichst herauszuzögern, zum anderen darin, daß sie nur den morphologischen Aspekt der Veränderung der Zellfunktion erfaßt. Die Vorteile der Methode sind:

1. daß die morphologischen und kinetischen Veränderungen der Zellen sich in ihrer zeitlichen Koordination darstellen,
2. daß die Zeitraffung der Kamera die Geschwindigkeit

langsamer Strukturveränderungen der physiologischen Wahrnehmbarkeit des Beobachters anpaßt,

3. daß die mehrmalige Beobachtung desselben Vorganges seine Analyse und
4. die Teilbildanalyse eine graphische Darstellung ermöglicht.

Mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskopes können wir folgende Lebensäußerungen morphologisch erfassen:

Motilität, Stoffaufnahme, Zellteilung,
Reifung, Degeneration und Zeiosis.

Da die Morphologie der Zeiosis, als Thema meiner Arbeit, gegen die Morphologie der genannten Lebensäußerungen abzugrenzen sein wird, sollen zunächst deren wesentliche Fakten dargelegt werden.

1. Motilität:

ist für die Zelle Eigen- und lokomotorische Bewegung (LETTERER).

Eigenbewegung bedeutet Gesamtbewegung oder Bewegung der Teile eines Organismus ohne Ortsveränderung. Zur Eigenbewegung befähigt die Protoplasmaströmung in der Zelle. Dazu gehören die Bewegung der Zilien und undulierenden Membranen, die Bildung pseudopodienartiger Fortsätze des Cytoplasmas, die Kontraktion der Myoepithelien und der Zellhälften bei der Zellteilung, die Verformung des Zellkernes, die Granulakinetik und die Bewegung der Vacuolen und der Glanzkörper (LETTERER).

Blisterbildung ist eine charakteristische Eigenschaft von Erythroblasten, die zur aktiven Ausbildung kleiner, pseudopodienartiger Cytoplasmaausstülpungen befähigt sind. Die Blister sind Cytoplasmaausstülpungen, die lokalisiert oder regellos wechselnd entlang der Zellperi-

pherie entstehen. Sie treten kurzfristig hervor und fließen schnell wieder zurück. Über die Bedeutung des Blisterphänomens besteht noch keine Klarheit, möglicherweise soll damit eine Oberflächenvergrößerung der Zelle erreicht werden, die im funktionellen Zusammenhang mit der Flüssigkeitsaufnahme und der Sekretion steht.

1966 beobachtete BOLL die Blisterbildung in der Anaphase von sich teilenden Granuloblasten, nachdem der Vorgang von LETTRE bei Fibroblastenmitosen als Zeichen des O_2 -Mangels angesehen wurde.

Lokomotion ist die Fortbewegung der Zelle mit Hilfe einer Gesamt- oder koordinierten Teilbewegung der Zelle, die eine Änderung des Standortes bewirkt. Zur Ortsbewegung dienen Zilien, undulierende Membranen, Pseudopodien und Geißeln an der Zelloberfläche.

Die Motilität ist grundsätzlich an die fibrilläre Struktur des Cytoplasmas gebunden, von der LETTERER annimmt, daß die Fadenmoleküle aufgrund ihrer inneren Struktur eine elastische Verkürzungstendenz und eine Fähigkeit zur Entspannung besitzen. Die Kontraktion kann auch an toten Zellen noch künstlich ausgelöst werden, da sie sich an der molekularen Einheit vollzieht und somit an Modellstrukturen wie an vitalen Zellen reproduzierbar ist. Voraussetzung ist das Vorhandensein von ATP, da der Vorgang der Kontraktion ein energieverbrauchender Prozeß ist (LETTERER). STOBBE erklärt die Lokomotion mit einer lokalen Änderung der Oberflächenspannung und der elektrischen Struktur der Zelloberfläche und mit der intrazellulären kolloidalen Struktur der Zelle, d.h. der Sol-Gelumwandlung bestimmter Cytoplasmabezirke. Die innerzelluläre Protoplasmaströmung (Zyklose) ist eine Funktion des Zellstoffwechsels, die von der Temperatur und der Viskosität des Cytoplasmas abhängig ist und gleichzeitig ein Signum für die Intaktheit der Zelle (LETTERER).

Daß sich die kernhaltigen Blutzellen fortbewegen, ist seit 1850 durch DAVEINE bekannt. Nach BOLL ist die Lokomotion allen reiferen Zellformationen eigen. Dies sind in der weißen Reihe die Metamyelocyten, die stab- und segmentkernigen Granulocyten, die Lymphocyten und die Monocyten. Die Monocyten besitzen außerdem eine ausgeprägte Fähigkeit zur Pinocytose und Phagocytose. Die Blasten der akuten Leukaemie und die erythraemischen Erythroblasten können sich ebenso wie - wenn auch seltener - die pathologischen Plasmazellen beim Plasmocytom fortbewegen. Die großen Immunblasten der Phyto- kultur und des Lymphknotens zeigen ebenfalls Lokomotion.

Eine Schematisierung der Bewegungstypen ist - bei der Vielfalt ihrer Erscheinungsformen - schwierig. Aus der Vielzahl der veröffentlichten Studien wählen wir die von RIND und eine kurze Skizzierung von OFUJI und WATARI, um an den typischen bisher beschriebenen Motilitätsmustern der lebenden Zellen das atypische cytokinetische Bild der Zeiosis zu vergleichen. Die wechselnde Gestalt der Pseudopodien, d.h. der Cytoplasmaausstülpungen ohne Kern- anteil, und die jeweilige Lage des Zellkernes zum granu- lahaltigen Cytoplasma sind die wesentlichen Kriterien der Zuordnung zu den Bewegungstypen.

RIND unterscheidet bei den Granulocyten drei Bewegungs- typen:

1. Bewegungstyp: In der sessilen, sich nicht fortbewegen- den Zelle liegt der Kern zentral oder exzentrisch in dem von Granula angefüll- ten Cytoplasma.
2. Bewegungstyp: In dem länglich-oval geformten Granulo- cyten liegt der Kern im hinteren Anteil. Die Granula befinden sich im wesentlichen im mittleren Anteil, während der sich breit vorwärtsschiebende vordere Cytoplas- maanteil frei von Granula ist. Bei der

Änderung der Bewegungsrichtung durch seitliche Zellfortsätze wird auch der Kern, das granulohaltige Cytoplasma und der granulafreie Cytoplasmasaum in dieser Reihenfolge neu geordnet. Am hinteren Zellpol befindet sich ein mit phasenpositiven Körnern angefüllter Bürzel.

3. Bewegungstyp: Der Kern folgt dem in Bewegungsrichtung vorgeschobenen granulafreien Cytoplasmasaum unmittelbar, die übrige Anordnung entspricht dem Typ 2.



Abb. 1

Bewegungsformen der Granulocyten nach RIND

WATARI, OFUJI und HIRAKI unterscheiden zwölf verschiedene Bewegungsformen der Granulocyten. In der zeichnerischen Darstellung dieser Typen wird der regelmäßige Übergang von der Ruheform in die jeweilige Bewegungsform und ihre erneute Rückbildung zur Ruheform wiedergegeben.

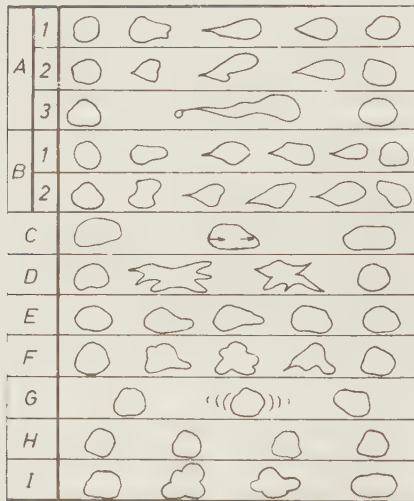


Abb. 2

Bewegungsformen der Granulocyten nach WATARI, OFUJI
und HIRAKI

Bei den Lymphocyten unterteilt RIND Bewegungstypen, die nach dem Verhalten von Kern und Cytoplasma während der Bewegung zugeordnet werden:

1. Bewegungstyp: Der abgerundete Lymphocyt befindet sich im Zustand scheinbarer Bewegungslosigkeit. Bei stärkerer Zeitraffung ist eine geringe Änderung der Kernkonfiguration sowie eine Formänderung des Plasmas nachweisbar, die aber zu keiner Fortbewegung der Zelle führt.

2. Bewegungstyp: Der Lymphocyt zeigt mit verschiedenartigen Plasmaausläufern und unregelmäßig geformtem Zellkern ein polymorphes Bild, aber keinen wesentlichen Ortswechsel. Bei längerer Beobachtung verändert sich die Form und die Lage des Zellkernes und die Plasmafortsätze bilden sich zurück bzw. neu.
3. Bewegungstyp: ist durch langsame Fortbewegung charakterisiert, bei der sich die Zellform ständig verändert. Die Zelle zeigt sog. "Handspiegelform" mit einer undulierenden Membran am vorderen Zellpol und einem Bürzel am hinteren Zellpol.



Abb. 3

Die 3 Bewegungsformen der Lymphocyten

2. Stoffaufnahme:

Bei der Phagocytose und der Pinocytose handelt es sich um einen aktiven Stofftransport in die Zelle unter Aufrechterhaltung der spezifischen Permeabilitätseigenschaften der Zelle (GROPP).

Phagocytose: In vitro gezüchtete Zellen sind allgemein zur Phagocytose befähigt. Übereinkunftsgemäß sind die phagocytisierten Partikel größer als 1 μm . Die Phagocytose einer Partikelgröße von 10 - 1000 Å Durchmesser wird als Kolloidpermeation oder Mikrophagocytose analog der Mikropinocytose bezeichnet. Ein selektiver Auswahlmechanismus durch die Plasmamembran fehlt. Durch die Wanderungsbewegung beim Auswachsen der Kultur geraten die Zellen mit den peripheren Fortsätzen an das zu phagocytisierende Material heran. Schmale Hyaloplasmazungen umfließen die Phagosomen, und wenn genügend Plasmasubstanz nachgeschickt werden kann, werden die Phagosomen ganz umfaßt und einverleibt (GROPP).

Pinocytose: Zur Pinocytose lichtmikroskopischer Größenordnung sind alle Zellen mit der Fähigkeit zur Pseudopodienbildung imstande (LEWIS). Sie ist immer von einer Undulation eines fein ausgezogenen Randsaumes des Cytoplasmas begleitet. Diese Undulation besteht in einer örtlichen, submikroskopischen Membranvesikulation oder in einer Mikropinocytose (PALADE 1953, 1956) zur Oberflächenvergrößerung. Bei der Mikropinocytose werden an die Plasmamembran fixierte Ionen, Moleküle und makromolekulare Aggregate durch Einsinken oder Einfließen der betreffenden Membranbezirke in das Plasmaminnere verlagert. In der Tiefe des Membranschlauches schnüren sich die Membranbläschen ab und werden im Cytoplasma möglicherweise an das endoplasmatische Retikulum (PALADE) herangeführt, wo die endgültige Stoffresorption durch die zunächst noch erhaltende Membran des Bläschens und die Stoffverarbeitung erfolgt (GROPP).

Die Mikropinocytose bewirkt die eigentliche Stoff- und Flüssigkeitsaufnahme sowohl bei der Kolloidpermeation als auch bei der lichtmikroskopischen Pinocytose. Die für die Pinocytose charakteristischen Flüssigkeitströpfchen entstehen erst im Inneren der Zelle, so daß die spezifische Membranbarriere an der Zelloberfläche auch bei lebhaftester Pinocytose erhalten bleibt (GROPP).

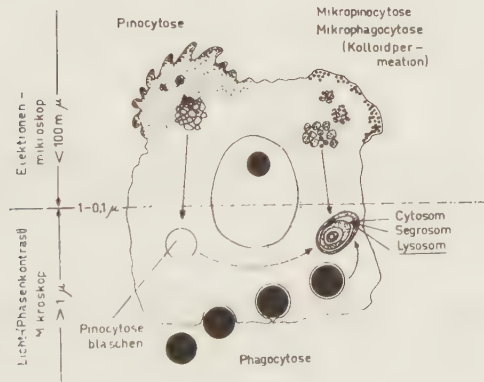


Abb. 4

Schematische Darstellung der Zusammenhänge von Phagocytose und Pinocytose der mikroskopischen und submikroskopischen Größenbereiche mit Mikropinocytose, Mikrophagocytose und Kolloidpermeation nach A. GROPP

Cytopempsis: bezeichnet nach MOORE und RUSKA den transzellulären Passagemechanismus von Flüssigkeiten. Dabei schnüren sich wie bei der Pinocytose Anteile der Plasmamembran einer Zelle unter Einschließung von extrazellulären Flüssigkeitströpfchen ab, um in Form submikroskopischer kleiner Bläschen (kleiner als 1000 Å) zelleinwärts zu wandern und an einer anderen Stelle der Zellwand wieder ausgefaltet zu werden. Der Bläscheninhalt kann also ohne Permeation einer Membran und ohne mit dem Cytoplasma direkten Kontakt zu haben durch das Cytoplasma geschleust werden (STAUBESAND).

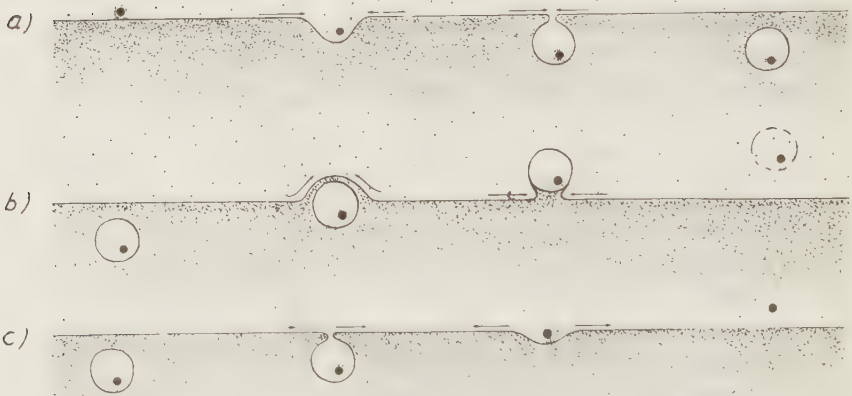


Abb. 5

Schematische Entstehung der Cytopempsis

- a) zeigt die Entstehung mikropinocytotischer Bläschen, in das ein Partikel kolloidaler Größenordnung eingeschlossen wird.
 - b) zeigt die Ausschleusung mikropinocytotischer Bläschen, in die je ein Partikel kolloidaler Größenordnung eingeschlossen ist. Das Bläschen wird mitsamt seiner Membran abgenabelt.
 - c) zeigt die Ausfaltung der Membran des Bläschens.
- Die Pfeile zeigen die Fließrichtung der Zellmembran (nach J. STAUBESAND).

Laufbild-Analyse Abb. 11:

Der Granuloblast zeigt zu Beobachtungsbeginn lebhaftes Oberflächenmotilität mit deutlicher Granulabewegung. Durch kleinste Cytoplasmaausstülpungen um ihre ganze Circumferenz scheint die Peripherie uneben. In den ersten 2 Beobachtungsstunden zeigt die Zelle keine auffällige Gestaltänderung, dann nimmt die Zellmotilität zu. Es stellen immer größere Cytoplasmaausstülpungen auf, die schnell wieder zurückfließen, der Zellkern wird unscharf, er scheint von der Zellunruhe angesteckt. Gegen Ende der nächsten 2 Stunden wird eine breitbasig angelegte Cytoplasmaausstülpung sichtbar, die den sich rundlich deformierenden Kern aufnimmt; gleichzeitig läßt die Zellmotilität nach, die Zellmembran wirkt glatt und eben. Der Zellkern geht in die Extension und füllt den unteren Bezirk der sackförmigen Ausstülpung ganz aus. An der anderen rechten Seite entsteht eine undulierende Membran, die sich in die granulafreie Zellmembranausstülpung des Teilbildes c umwandelt. Nach etwa 90 Minuten beginnt sich die Cytoplasmaextension kontinuierlich zu verkürzen unter gleichzeitiger Einbeziehung der Membranausstülpung, bis diese innerhalb der Zellkonturen liegt (Teilbild f). Bis zu dieser makroskopischen Membraneinziehung vergehen etwa 20 Minuten. Nun steigt unterhalb dieses Bezirkes eine stengelförmige Cytoplasmaausstülpung auf, die sich in cranialer Richtung dicht um die äußere Zellperipherie schlingt und gleichzeitig den sich länglich deformierenden Zellkern aufnimmt. Innerhalb der nächsten 20 Minuten fließt die sackförmige Cytoplasmaausstülpung in einer Rotationsbewegung um das Restcytoplasma herum, bleibt diesem dicht angelagert und stellt sich für wenige Minuten als runde Zelle dar. Innerhalb der nächsten 35 Minuten vollzieht die Zelle noch einmal eine Rotationsbewegung um eine bei 9 Uhr liegende Vacuole und formiert sich anschließend wieder als

völlig abgerundete, intakte Zelle, die in ihrem Cytoplasma 3 phasenegative runde Strukturen unterschiedlicher Größe enthält. Die größte Struktur ist aus der undulierenden Membran hervorgegangen.

Für den Rest des Beobachtungsverlaufes von etwa 3 1/2 Stunden behält die Zelle ihre Kontur und sendet um ihre ganze Circumferenz multiple kleinste Cytoplasmaausstülpungen aus.

Der Granuloblast zeigt Motilität mit nur kurzer Lokomotion. Die schneckenförmige, linksdrehende Cytoplasmaausstülpung läßt die Zelle am Ort liegen. Das Zeiosegeschehen läuft in der diesem Phänomen so typischen abrupten, stoßartigen Weise ab.

6. Zeiosis:

bezeichnet ein morphologisches Phänomen an tierischen Zellen, das von POMERAT und COSTERO erstmalig beschrieben und mit einer "hautbläschen- oder luftbläschen-ähnlichen Aktivität" der Zellmembran verglichen wurde. Es handelt sich dabei um Cytoplasmaausstülpungen unterschiedlicher Größe und Form, die entlang der Zellperipherie auftreten und teilweise reversibel sind, teilweise kommt es zu einer Verlagerung von Zellstrukturen in die Cytoplasmaausstülpungen hinein, die entweder in die Zelle zurückkehren, oder es kommt zu einer vollständigen Verlagerung der Zellstrukturen in die Cytoplasmaextension, was dann zu einem eindrucksvollen Gestaltwechsel der Zelle führen kann (ROSE).

Durch den Zusatz verschiedener Reagentien zum Kulturmedium wurde dies Phänomen induziert. DORNFELD und OWCZARZAK (1958) benutzten EDTA an Kükenherzfibroblasten, BELKIN und HARDY (1961) schwere Metalle an malignen Zellen, JOURNEY und GOLDSTEIN (1961) Aktinomycin D an Hela-Zellen, LINDAU und McALEAR (1961) hydrostatischen Druck an FL amnion strain Zellen, FREED et al. (1959) ultraviolette Licht an Ehrlich Ascites Tumorzellen, COOPER et al. Leuchtgas an Strain L Zellen (1962).

George G. ROSE berichtete 1963 und 1964 von kinemographischen Beobachtungen an Hühnerembryonen-Knochenmarkzellen. Das Phänomen der Zeiosis trat verstärkt auf, wenn die Zellen unter einer Zellophanmembran kultiviert wurden. Nach ROSE steht die Zeiosis im Zusammenhang mit der Zellmembranbewegung, die die Pinocytose und die Phagocytose einleiten. Er nimmt an, daß die Zeiosis und die Pinocytose nur unterschiedliche visuelle Manifestationen der gleichen Zellfunktion sind, nämlich eine Membranaktivität, die der Nährstoffaufnahme dient. Die rhythmische Kontraktionswelle der Zeioseblase ist demnach analog der Membranundulation zu werten. Beide Prozesse treten alternierend

auf, beide vergrößern die Oberfläche der Zelle. Die Pinocytose tut dies durch die Membranundulation, die Zeiosis durch ihre Cytoplasmaausstülpungen, und beide bedingen so ein größeres Potential zum Austausch mit dem extrazellulären Milieu.

Nach ROSE ist die Zeiosis ein vorübergehender und aller Wahrscheinlichkeit nach normaler Prozeß zellulärer Aktivität, der durch den plättenden Effekt der Zellophanentechnik in der Kultur hervorgerufen wird, da durch diese Technik die undulierende Aktivität der Pinocytose verloren geht. Die Membranundulation, die der Tröpfchenaufnahme vorausgeht, erfordert offensichtlich eine größere Bewegungsfreiheit der Zelle. Bei der Zellophanentechnik mit ihren dicht aneinandergelagerten Zellen - wie das elektronenoptische Bild zeigt - ist diese notwendige Tiefe in Richtung auf die optische Achse nicht gegeben. Um die Nährstoffaufnahme unter räumlich extrem eingeengten Lebensbedingungen zu ermöglichen, tritt dann die Zeiosis auf.

PROBLEMSTELLUNG

Bei den Lebendbeobachtungen von menschlichen Knochenmarkzellkulturen mit dem Phasenkontrastmikroskop zeigten sich wiederholt Bewegungsvorgänge der Zellen, die sich auffällig von der bekannten Motilität und Lokomotion unterscheiden und am ehesten der Zeiosis ROSEs gleichen. Diesen Terminus technicus übernehmen wir in der Folge für das Zellphänomen, das wir unter Anwendung der üblichen Kulturbedingungen an vitalen menschlichen Blut- und Knochenmarkzellen beobachtet haben.

Diese Bewegungsphänomene wurden kinematographisch dokumentiert. Die meist über viele Stunden dauernden Beobachtungen und die retrospektive Auswertung des seit 1960 angelegten Filmarchivs liegen dieser Arbeit zugrunde.

Die Bewegungsphänomene werden cytomorphologisch beschrieben, photographisch belegt und im Vergleich mit den Beobachtungen ROSEs eine Deutung versucht.

MATERIAL UND METHODE

Die Knochenmarkzellen werden durch Sternalpunktion, die Blutzellen durch Venenpunktion entnommen. Um über längere Zeit lebende Zellen im Phasenkontrastmikroskop zu beobachten, werden geeignete sogenannte "platte Kulturen" nach einem von BOLL angegebenen Verfahren angefertigt. Hierzu wird Medium in flacher Schicht auf Deckgläsern zur Gerinnung gebracht, die Zellen werden aufgebracht und mit Deckgläsern eine planparallele Kammer hergestellt, die mit Hartparaffin luftdicht verschlossen wird.

In Anlehnung an die modifizierte CARRELsche Methode werden Deckglaskulturen auf hängendem Tropfen angelegt, um die Knochenmarkzellen bis zu 4 Tagen bei 37° C zu inkubieren. Aus den Deckglaskulturen wird nach Entfernung des Hohlsliffobjektträgers in den gewünschten Zeitabständen die "platte Kultur" angefertigt.

Das Nährmedium für beide Kulturverfahren besteht aus:

- 50 % Nativ-Plasma des betreffenden Patienten,
- 10 % Corhormon^R (Chemiewerke Homburg),
- 40 % Hanks Lösung bzw. Serum.

Die Beobachtungen werden mit Phasenkontrastmikroskopen der Firmen Zeiss und Leitz mit Ölimmersion und einem 70- bis 100-fachen Ölimmersionsobjektiv durchgeführt. Die "platte Kultur" befindet sich dabei in einem Mikroskopwärmeschrank bei 37° C.

Zur Dokumentation der Beobachtung dient eine Aufsatzkamera Bolex 16 ohne Objektiv, ein Trickgerät und ein Zeitraffer der Firma Kindervater. Das Aufnahmegerät ist mit einem Zeiss'schen Grundkörper und einer Photozelle zur Belichtungsmessung über dem Mikroskop aufgehängt. Die Zeitintervalle der Aufnahmen werden vom Beobachter

festgelegt, meistens wurde ein Aufnahmeabstand von 20 Sekunden gewählt. Die Belichtungszeit betrug $1/4$ Sekunde. Alle Aufnahmen wurden in positivem Phasenkontrast auf Negativfilmen hergestellt und die gelungenen Aufnahmen auf Positivfilme umkopiert. Das Bild erscheint also dunkel auf hellem Hintergrund.

Die cytomorphologische Beschreibung des Phänomens der Zeiosis erfolgt anhand der Laufbild- und der Teilbild-Analyse.

Bei der Laufbild-Analyse wird der Film mit einer mittleren Durchlaufgeschwindigkeit von 16 Bildern/Sekunde an eine Vorführleinwand projiziert, dadurch erhält man einen Gesamteindruck von der Dynamik und der zeitlichen Koordination des Geschehens.

Bei der Teilbild-Analyse wird der Film mit Hilfe eines Betrachtergerätes Bild für Bild durchgemustert und entweder in konstanten Zeitabständen, die sich aus dem Aufnahmeprotokoll mit der Anzahl der Aufnahmen/Sekunde ergeben, oder an besonders eindrucksvollen Zelldarstellungen markiert, um davon im Photolabor Positive herzustellen.

ERGEBNISSE

Das Phänomen der Zeiosis konnten wir - bei ca. 2.000 Lebendbeobachtungen - an 42 Granuloblasten und 4 Immunoblasten beobachten und mit einer gesamten Beobachtungsdauer von etwa 350 Stunden kinematographisch dokumentieren.

G r a n u l o b l a s t e n : Unter diesem Begriff werden die Promyelocyten und die Myelocyten zusammengefaßt, da diese beiden Zelltypen im Phasenkontrastmikroskop nicht mit Sicherheit zu unterscheiden sind. Die Zellen zeigen eine ähnliche Kern-Plasma-Relation, grobe phasenpositive, lebhaft bewegliche Granulation im Cytoplasma und meistens ein deutlich erkennbares Cytozentrum an der Kernbucht. Beides sind sessile Zellen, d.h. sie zeigen keine Lokomotion und weisen mäßige Motilität auf, d.h. sie senden Cytoplasmafortsätze nach verschiedenen Seiten aus (BOLL).

Als **I m m u n o b l a s t e n** oder **P h y t o z e l l e n** werden Blutlymphocyten bezeichnet, die sich durch einen Zusatz von Phytohaemagglutinin in der Zellkultur transformiert haben. Diese großen Zellen haben ausgedehnte, lockere Kerne mit netziger Struktur und Nucleolen. Das Cytoplasma enthält Mitochondrien und bildet häufig und transitorisch Fortsätze. Ein Teil der Zelle nimmt mit einer undulierenden Membran an der Frontseite und einem Bürzel am hinteren Zellpol Lokomotion auf (BOLL 2). Mitosen kommen wie bei den Granuloblasten vor.

Die folgenden Beispiele sollen die charakteristischen morphologischen Veränderungen bei dem Vorgang der Zeiosis demonstrieren.

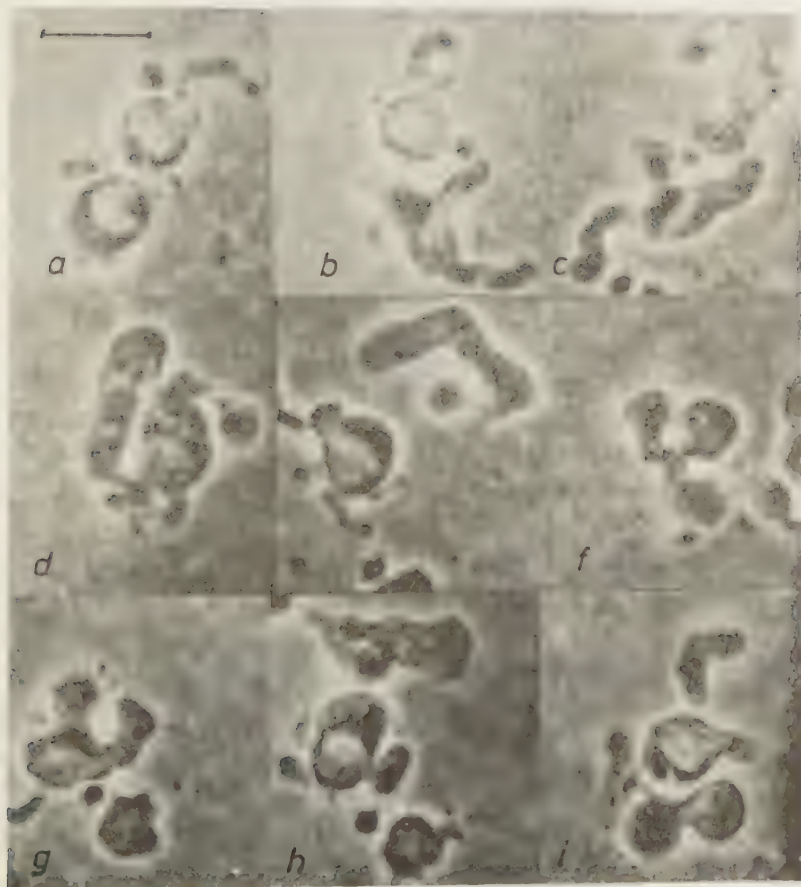


Abb. 6

2 Granuloblasten mit Deformierungen durch lebhafte Zytolysis.
Film 1009, aus normalem Knochenmark G.; Beobachtungsdauer:
7 Stunden; Phasenkontrast; Objektivvergrößerung: 70-fach.

— = 10 μ m

Bildbeschreibung der Abb. 6:

Diese Photoserie stellt einen Beobachtungsausschnitt von 90 Minuten dar, die Bilder sind im Abstand von 10 Minuten aufgenommen. Sie zeigen 2 Granuloblasten in lebhafter Zeiosis. Die Bilder g und h zeigen außerdem im unteren Bildanteil einen Lymphocyten, der keine Zeiosisbewegung durchführt.

In ihrer abgerundeten Form haben beide Granuloblasten einen relativ kleinen Durchmesser, der Zellkern ist fast immer deutlich zu erkennen und paßt sich in seiner Form der jeweiligen Bewegungsaktivität der Zelle an. Die blasenförmigen runden oder teils länglichen Gebilde, die sich in allen Abbildungen in Nähe der unterschiedlich konfigurierten Granuloblasten darstellen, sind Cytoplasmaausstülpungen der beiden Zellen, die durch den sie überstrahlenden Kontrasthalo optisch wie von der Mutterzelle losgelöst erscheinen, ohne es effektiv zu sein.

Der ständige Gestaltwechsel der Granuloblasten beruht darauf, daß sie in schneller Folge amorphe Cytoplasmaausstülpungen aussenden und wieder zurücknehmen, zu vergleichen mit dem Aussenden und Zurücknehmen von Fangarmen. Die Granuloblasten zeigen lebhaftes Motilität und intensive Lokomotion im Gegensatz zum bisher bekannten sessilen Verhalten dieses Zelltyps. Sie tänzeln durch das Gesichtsfeld, verlassen dieses, und wenn sie kurz darauf wieder im Bild auftauchen, sind ihre Konturen verändert. Das ganze mutet unbeständig, unruhig, fast spielerisch an, so daß es nicht gut möglich ist, das kontinuierliche Verhalten der beiden Granuloblasten in einer Laufbild- und Teilbild-Analyse zu beschreiben.

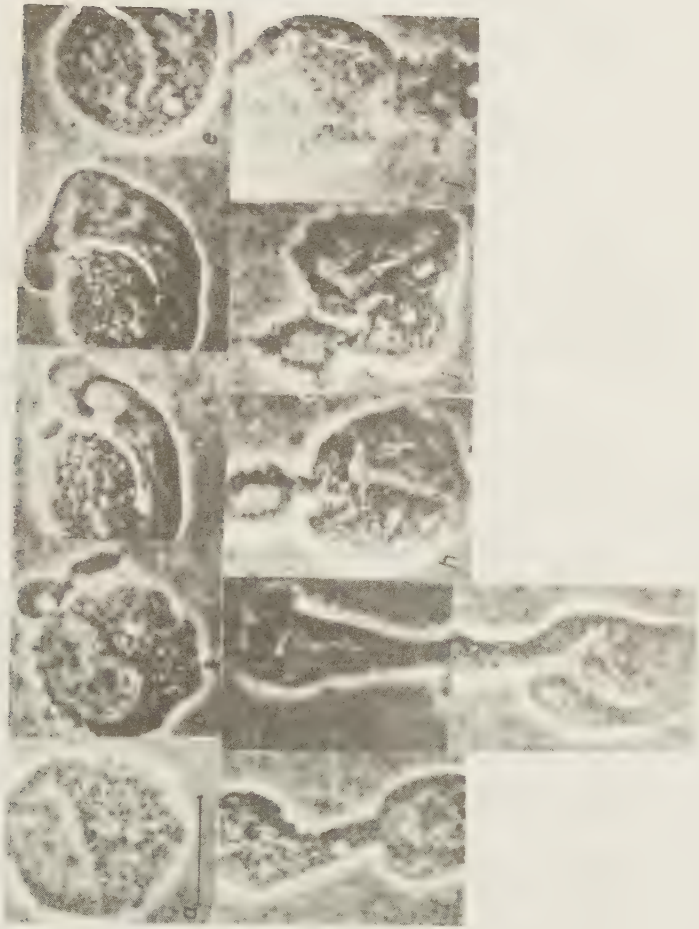


Abb. 7

Granuloblast mit Zeiosis (erst schneckenförmig, dann
lang ausgezogen).

Film 1285, aus normalem Knochenmark Pf.; Beobachtungs-
dauer: 7 Stunden; Phasenkontrast; Objektivvergrößerung:

100-fach. ——— = 10 μ m

Teilbild-Analyse Abb. 7:

- Serienphoto a: Großer, runder Granuloblast ist mit gezählter Zellbegrenzung infolge kleinster multipler Cytoplasmaausstülpungen sichtbar. Das Cytoplasma ist bis auf einzelne Aufhellungen dicht mit groben, runden, dunklen Granula angefüllt. Oben liegt der nierenförmige Zellkern mit streifig-fleckiger Chromatinstruktur und einigen nucleolenartigen Chromatinverdichtungen.
- Serienphoto b: Im Verlauf der ersten 120 Beobachtungsminuten zeigt die Zelle keine wesentliche Veränderung ihrer Morphe. Dann hat sich innerhalb 1 Minute eine blasenförmige Cytoplasmaausstülpung oben geformt. Eine unregelmäßig begrenzte phasennegative Struktur liegt im Cytozentrum.
- Serienphoto c: Nach 6 Minuten stellt sich eine sackförmige Cytoplasmaausstülpung mit dem länglich deformierten Zellkern dar. Sie verläuft entlang der Zellperipherie und geht von links unten aus. Die Cytoplasmaausstülpung rechts oben ist fast ganz zurückgebildet.
- Serienphoto d: Nach 2 Minuten hat sich der Cytoplasmafortsatz weiter um die Zelle geschlungen.
- Serienphoto e: Nach 3 Minuten stellt sich ein Teil des Restcytoplasmas, der grobe, dunkle Granula und eine große, runde, phasennegative Vacuole neben multiplen Aufhellungen enthält, dar.
- Serienphoto f: Nach 11 Minuten ist der mittlere Anteil der Zelle zu sehen. Der untere Anteil enthält den Zellkern, im stengelförmigen Verbindungs-

stück befindet sich die große, runde, phasennegative Struktur von Teilbild b.

Serienphoto g: Nach 35 Minuten demonstrieren 2 aneinandergefügte Aufnahmen die ganze Ausdehnung der Zelle in ihrer Längsachse. Im Zentrum des knaufförmigen Cytoplasmaanteiles liegt als ovale Aufhellung das Cytozentrum, die Konturen am Ende sind durch Motilität unscharf. Am unteren Zellpol erhebt sich über dem Kern eine nach cranial gerichtete, strichförmige, granulafreie Aufhellung oder Cytoplasmaspalte.

Serienphoto h: Nach 140 Minuten hat sich die Zelle wieder abgerundet. Unterhalb des rechts unten befindlichen Kernes liegt eine granulafreie Cytoplasmazone. Im Cytoplasma zeigen sich 2 große, runde, phasennegative Vacuolen und lateral davon im Längsstreifen entlang der Zellperipherie ebenfalls unregelmäßig begrenzte Aufhellungen. Der obere Zellpol ist leicht eingebuchtet, ohne Granula stellt er sich homogen hellgrau dar. Daneben beginnt eine gestielte Cytoplasmaausstülpung, die in den Randpartien Granula und das große Cytozentrum enthält.

Serienphoto i: Nach 42 Minuten hat sich der Granuloblast wieder verformt und dreht mit dem vorangehenden, den Kern enthaltenden Anteil weiter gegen den Uhrzeiger. Lateral vom Zellkern, an der Zelloberfläche, bildet das Cytoplasma grobe Wellen. Der Cytoplasmafortsatz hat seine Granulagruppierung beibehalten. Die beiden Vacuolen sind in gleicher Größe offenbar passiv mitverlagert worden.

Serienphoto j: Nach 60 Minuten sieht man morphologische Veränderungen an der ganzen Zelle, die den bereits erfolgten Zelltod demonstrieren. Insbesondere hat sich der Kern aufgelöst und ist durch einen Hof vom Cytoplasma abgesetzt.

Laufbild-Analyse Abb. 7:

Am Beobachtungsbeginn zeigt der Granuloblast lebhaftes Motilität. Entlang seiner Circumferenz sendet er kleine Cytoplasmaausstülpungen in die Peripherie, die schnell wieder zurückgenommen werden, während andere entstehen, wodurch er ein unruhiges, wie ausgefranztes Aussehen bekommt. Im Verlauf der ersten 2 Beobachtungsstunden verhält sich der Granuloblast unauffällig. Plötzlich entsteht innerhalb einer Minute bei 1 Uhr eine blasenförmige Cytoplasmaausstülpung, die ebenso schnell zurückgenommen wird, während jetzt zwischen 7 und 8 Uhr eine breiter angelegte Cytoplasmaausstülpung aufsteigt, die schnell größer wird, den sich länglich deformierenden Zellkern aufnimmt und sich dabei gleichzeitig mit ihrer sackförmigen Verlängerung um die äußere Zellperipherie herumwindet. Der Zellschwerpunkt verlagert sich schnell in die Cytoplasmaextension, und der kleiner werdende Cytoplasma-rest wird schneckenförmig aufgerollt und um die eigene Achse herumgezogen, so daß er zum knaufförmigen Endstück des Zellgebildes wird. Der Granuloblast streckt sich ganz in die Länge und zeigt neben lebhafter Motilität und Granulabewegung auch Lokomotion, wobei er in seiner typischen Lageanordnung der einzelnen Zellstrukturen an den Bewegungstyp 3 der Granulocyten nach RIND (Abb. 1) erinnert. Die ursprüngliche Cytoplasmaausstülpung enthält den Zellkern und granulahaltiges Cytoplasma. Die Granulakinetik ist lebhaft, dabei wird aber nie die im Serienphoto g beschriebene Aufhellung von Granula berührt, sondern bogenförmig umflossen (Abb. 8). Nach weiteren 40 Minuten Beobachtungszeit verkürzt sich die stengelförmige Verbindung durch Rückfluß des Cytoplasmas in den kernhaltigen Zellanteil, der Zellkern wird in der sich abrundenden Zelle randständig. Im Cytoplasma sind 2 runde Vacuolen neben multiplen Aufhellungen entlang des Zellrandes entstanden.

Am oberen Zellpol verbleibt ein bürzelförmiges Anhäng-

sel, das einen ovalen, fast homogenen hellgrauen Einschlußkörper, das Cytozentrum, aufweist, das aus dem birnenförmigen Gebilde hervorgegangen zu sein scheint.

Die während des ganzen Beobachtungsverlaufes lebhaft Granulakinetik steigert sich zum Ende hin. Plötzlich deformiert sich der Zellkern zu einem länglichen Gebilde und schiebt die Zelle noch einmal in einer Schraubenbewegung um die Zellachse. Dann rundet sich der Granuloblast ab und nimmt an Volumen zu (Plasmaödem), das bürzelförmige Gebilde platzt und zerfließt, die Granulakinetik erstarrt, der Zelltod ist erfolgt.

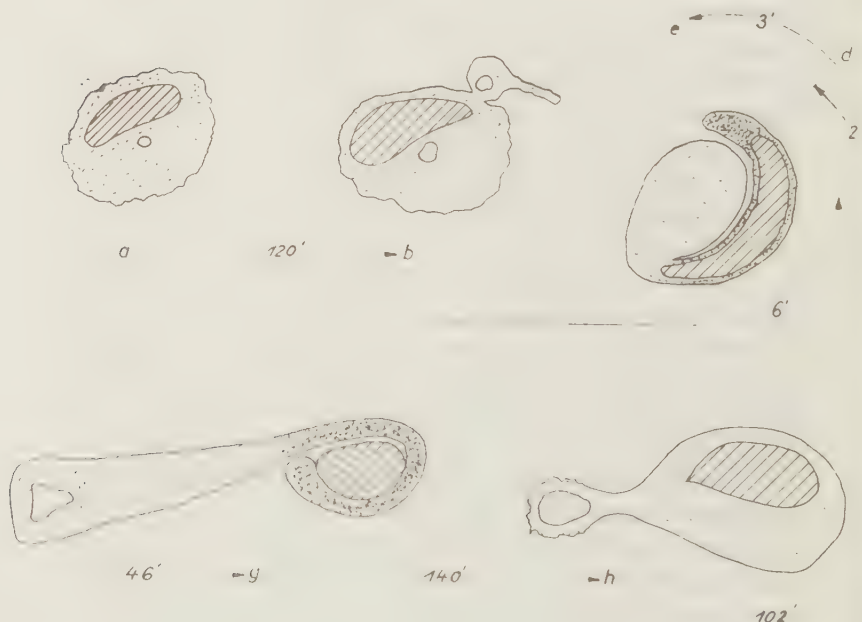
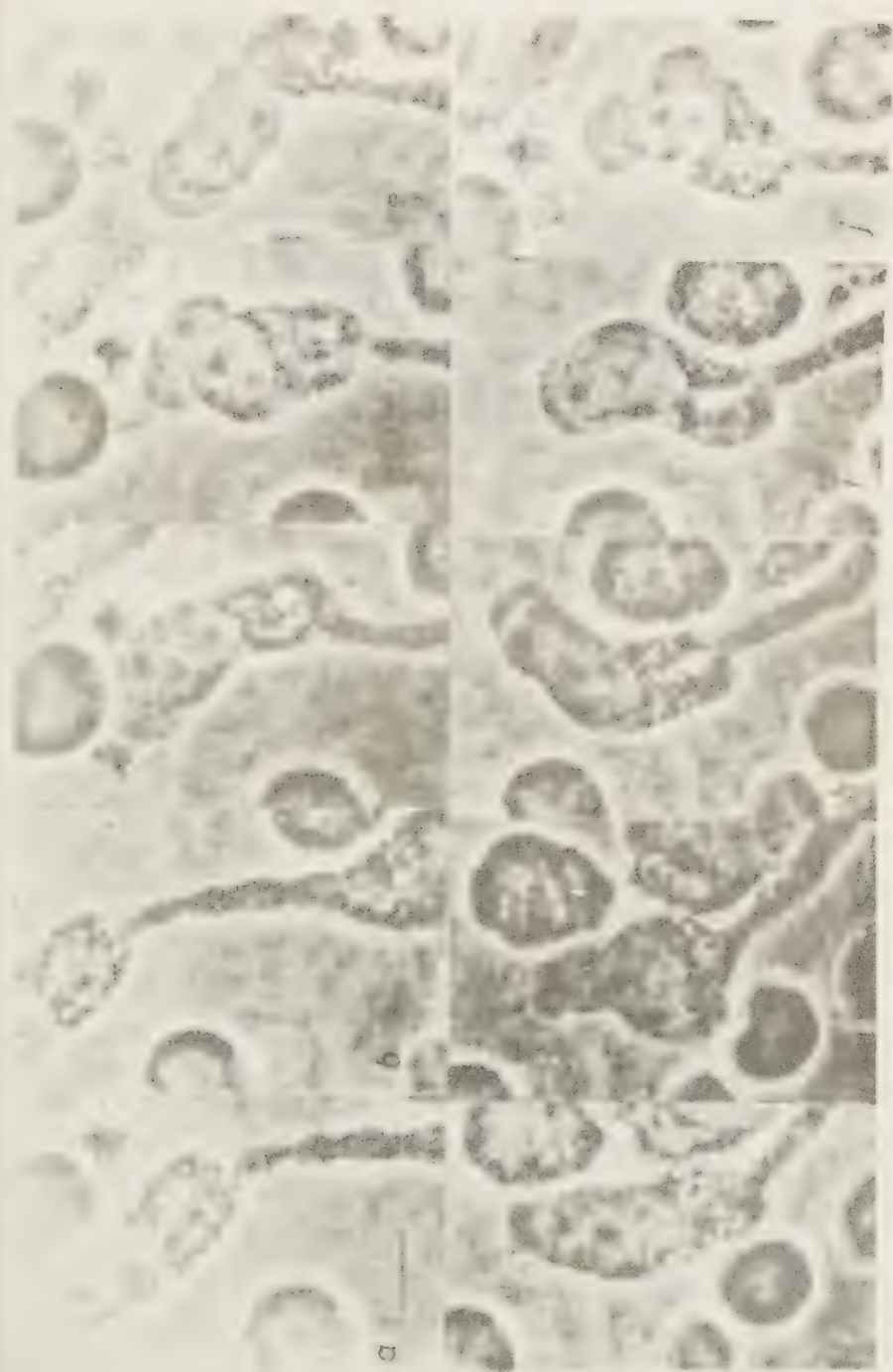


Abb. 8

Die Zeichnung stellt die Charakteristika des Vorganges noch einmal dar



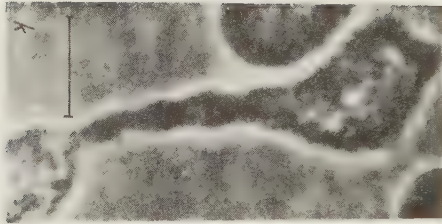


Abb. 9

Granuloblast mit großer konstanter Zeioseextension.
Film 923/26, aus Knochenmark R. bei Plasmocytom; Beobach-
tungsdauer: 6 Stunden 30 Minuten; Phasenkontrast; Objek-
tivvergrößerung: 100-fach. $\longleftrightarrow$ = 10 μ m

Teilbild-Analyse Abb. 9:

Serienphoto a: Der langausgezogene Granuloblast hat eine Cytoplasmaausstülpung, die nicht in ganzer Ausdehnung abgebildet ist. Am oberen Zellpol befindet sich ein schmaler, granulafreier, hellgrau-homogener Cytoplasmasaum vor einem nierenförmigen, hellen Zellkern mit deutlich streifig-fleckiger Struktur. Zwischen dem Kern und der stengelförmigen Cytoplasmaextension ist die Zelle breit und mit mittelgroben, dunkelgrauen Granula angefüllt, dazwischen liegen multiple Aufhellungen. Die Zellmembran erscheint an der Ausstülpung von zarter, wellenförmiger, unregelmäßiger Struktur, möglicherweise handelt es sich dabei um Kontraktionswellen. Die stengelförmige Cytoplasmaextension enthält dunkle Granula im etwas dunkleren Cytoplasma als das der übrigen Zelle. Ein phasennegativer Kontrasthalo umschließt Zelle und Fortsatz. Im Bild sind außerdem 2 Erythrocyten sichtbar.

Serienphoto b: Nach 14 Minuten tritt der obere Anteil der knaufförmigen Cytoplasmaextension im caudalen Bildausschnitt in Erscheinung. Neben der dunklen Granulation stellen sich mehrere unregelmäßig begrenzte, phasennegative, runde, im Durchmesser etwa 1,5 μ m große Vacuolen dar. Der stengelförmige Anteil der Cytoplasmaextension ist mehrmals knotenförmig verdickt, die Kontur der Grenzmembran zeigt kleine, wellenförmige Unebenheiten.

- Serienphoto c: Nach 5 Minuten hat sich in der Zelle eine große, runde, phasennegative Vacuole entwickelt. Der Zellkern steht mit seiner Längsachse im stumpfen Winkel zur Längsachse der Zelle. Am cranialen Zellpol ist jetzt der homogen graue, granulafreie Cytoplasmasaum sichtbar.
- Serienphoto d: Nach 8 Minuten wirkt die Zelle wie zusammengestaucht, der Kern hat sich umgeformt.
- Serienphoto e: Nach 23 Minuten ist die Zellform wieder langausgezogen. Die Vacuole ist nicht mehr zu sehen. Die Wurzel der Cytoplasmaextension scheint nach medial in Kernnähe verlagert zu sein, sie ist in diesem Bereich breiter, und es zeigen sich viele dunkle, körnige Granula.
- Serienphoto f: Nach 25 Minuten ist der Abgang des Cytoplasmafortsatzes wieder hinten an der Zelle.
- Serienphoto g: Nach 46 Minuten hat sich die Zelle etwas kontrahiert. 2 andere Granuloblasten sind rechts im Bild zu sehen.
- Serienphoto h: Nach 60 Minuten zeigt sich eine im stumpfen Winkel nach oben hin abgebogene Zellform. Im Cytoplasma findet sich wieder wie eine länglich ausgezogene phasennegative Vacuole das Cytozentrum.
- Serienphoto i: Nach 140 Minuten zeigt sich eine gedrungene, bohnenförmige Zellkonfiguration.
- Serienphoto j: Nach 30 Minuten stellt sich eine gedrungene, annähernd dreieckige Zellform dar mit einem kleeblattförmigen, gelappten Zellkern. Im hinteren Cytoplasmaanteil multiple, unscharfe, weiße Aufhellungen. Die stengelförmige

Cytoplasmaausstülpung enthält nur wenige dunkle Granula.

Serienphoto k: Nach 60 Minuten ist die endständige, knauf-
förmige Cytoplasmaausstülpung dargestellt.
Die Grenzmembrankonturen wirken wellenför-
mig deformiert, besonders in ihrem stengel-
förmigen Anteil (Kontraktionswelle). Im
Cytoplasma sind reichlich dunkle bis schwar-
ze Granula und mehrere unregelmäßig begrenz-
te, phasennegative Vacuolen enthalten.

Laufbild-Analyse Abb. 9:

Der Granuloblast mit seinem granulafreien Cytoplasmasaum, seiner fließbandähnlichen, schlangenförmigen Bewegung und seiner während des ganzen Beobachtungszeitraumes gleichbleibenden charakteristischen Anordnung der Zellbestandteile erinnert wie der Granuloblast in Abb. 7 an den Bewegungstyp 3 der Granulocyten nach RIND. Der Granuloblast unterscheidet sich aber von den Granulocyten durch die ovale Kernform und darin, daß der granulafreie Cytoplasmabereich am vorderen Zellpol niemals undulierende Bewegungen ausführt.

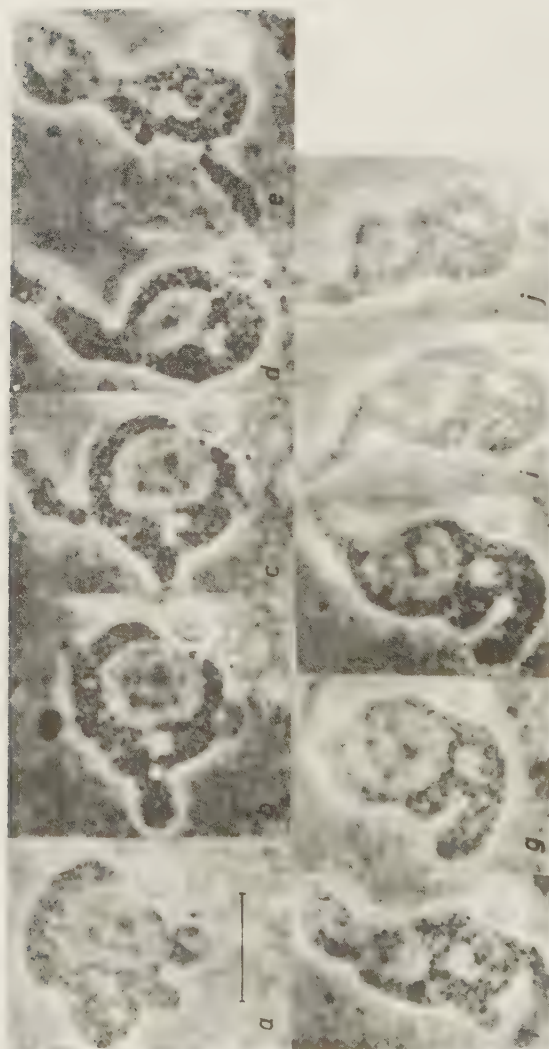
Am Zellende - quasi wie ein "Riesenbürzel" - zieht die Zelle eine langausgezogene Cytoplasmaausstülpung nach sich. Im Filmlaufbild erscheint der Zellkern prominent und wirkt, als ob er dem sich ihm kelchförmig entgegenstreckenden unteren Zellanteil nur in loser, flexibler Bindung aufsäße. Der Zellkern paßt sich in seiner Konfiguration jeweils der Zellmotilität an.

Die Beobachtung beginnt, während der Granuloblast gerade nach oben in fast zielgerichteter Bewegung durch das Gesichtsfeld eilt, die große Cytoplasmaausstülpung hinter sich herzieht und beim Hindurchschlängeln die ihm im Wege liegenden Zellen beiseite schiebt. Wegen der Größe seiner Längsachse liegt immer nur der Zellkörper oder der Fortsatz im Gesichtsfeld. Der Granuloblast führt dann lebhafteste Zellbewegung aus und erweckt den Eindruck, als wäre er mit seiner nicht abgebildeten Cytoplasmaextension an der Unterlage fixiert und bemühe sich, durch schlangenförmige Bewegung loszukommen. Dabei laufen über die ganze Zelle und den sichtbaren Anteil der stengelförmigen Extension wellenförmige Kontraktionsbewegungen. Die Beobachtung endet damit, daß sich der Fortsatz plötzlich losreißt, Lokomotion auftritt und die Zelle nach cranial aus dem Gesichtsfeld enteilt. Dabei zieht sie die Cytoplasma-

extension - quer durch das Gesichtsfeld - hinter sich her, ohne sie vorerst einzuziehen.

Während der Beobachtungsdauer von 6 Stunden und 30 Minuten ändert der Granuloblast ständig seine Konturen, von einer langgestreckten Form bis hin zur plumpen, gedrunge-
nen, bohnenförmigen Form. Die charakteristische Anordnung der einzelnen Zellstrukturen bleibt jedoch bestehen. Während der Beobachtungsdauer sieht man die Cytoplasmaausstülpungen weder erscheinen noch vergehen. Die Beobachtung endet nicht - wie die vorige - mit dem Zelltod. Während des ganzen Verlaufes stellt sich eine lebhafte Granulakinetik im mittleren Zellanteil und zeitweise phasennegative Vacuolen dar.

Der dominierende Eindruck dieser Zellbeobachtung ist die lebhafte Motilität der Zelle, die stoßartig, beinahe ruckweise um einen fixierten Punkt im Bereiche der großen Cytoplasmaextension abläuft.



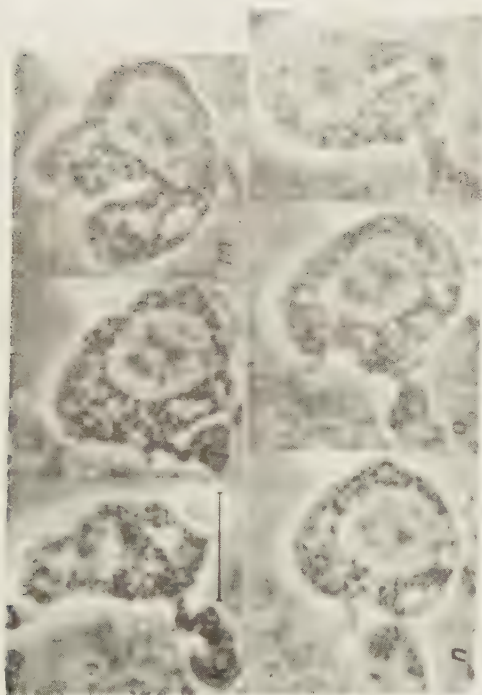


Abb. 10

Granuloblast mit Zeiosis nach mehreren Seiten.

Film 798, aus Knochenmark D. bei Anaemie; Beobachtungsdauer:
2 Stunden 30 Minuten; Phasenkontrast; Objektivvergrößerung:

100-fach. ——— = 10 μ m

Teilbild-Analyse Abb. 10:

- Serienphoto a: Ein unregelmäßig begrenzter Granuloblast mit blasenförmigen Cytoplasmaausstülpungen stellt sich dar. Die Zelle hat einen randständigen, hellen, ovalen Kern mit feinfleckig-streifiger Chromatinstruktur und dunklen, runden Kernkörperchen. Die Kernmembran ist optisch unscharf dargestellt. Im breiten Cytoplasmasaum sind reichlich grobe, graue bis schwarze Granula enthalten. Ein großes Cytozentrum und mehrere kleine phasennegative Vacuolen liegen links vom Kern.
- Serienphoto b: Nach 10 Minuten haben sich die Cytoplasmafortsätze in Lage und Gestalt geändert.
- Serienphoto c: Nach 10 Minuten stellt sich eine stengelförmige, knotig verdickte Cytoplasmaextension bei 11 Uhr dar.
- Serienphoto d: Nach 5 Minuten ist der länglich deformierte Kern teilweise in die Cytoplasmaextension eingewandert.
- Serienphoto e: Nach 20 Minuten ist die Zelle tailliert, um den Zellkern im oberen Teil findet sich kaum Cytoplasma. Das große Cytozentrum ist ganz vom Kern getrennt.
- Serienphoto f: Nach 5 Minuten ist der Kern teilweise in die Zelle zurückverlagert. 2 stengelförmige, fast granulafreie Cytoplasmaausstülpungen gehen vom unteren Zellpol aus. Das große phasennegative Cytozentrum im Cytoplasma ist unverändert.
- Serienphoto g: Nach 10 Minuten stellt sich der Zellkern rund und fast mittelständig dar. Unten

beginnt eine breite, hakenförmige Cytoplasmaausstülpung, an deren Basis das große phasennegative Cytozentrum liegt.

Serienphoto h: Nach 10 Minuten ist der Cytoplasmafortsatz oben wieder größer und breiter geworden.

Serienphoto i und j: Aufnahmen jeweils nach 10 Minuten. Die kontinuierliche Aneinanderlagerung der Grenzmembranen der hakenförmigen Cytoplasmaextension unten links ist in Abb. j vollzogen. Es ist eine längliche Zelle mit oben randständigem Zellkern entstanden, die bei 11 Uhr noch den Rest der granulafreien Cytoplasmaausstülpung aufweist.

Serienphoto k: Nach 10 Minuten hat sich eine stengelförmige Cytoplasmaextension bei 7 Uhr neu gebildet, die bei 11 Uhr ist kleiner geworden.

Serienphoto l: Nach 10 Minuten zeigt der Kern wieder eine runde Form und deutliche Kernstruktur. Die Cytoplasmaausstülpung bei 9 Uhr, die in ihrem caudalen Anteil von homogen grauer Struktur und granulafrei ist, stellt sich beutelförmig dar. Bei 5 Uhr findet sich ein granulafreier Randbezirk des Cytoplasmas.

Serienphoto m: Nach 10 Minuten ist eine hufeisenförmige Zelle entstanden, in deren unterer Cytoplasmaausstülpung ein homogen graues Gebilde liegt, das eine fadenförmige Brücke in Richtung auf den birnenförmigen Zellkern zu haben scheint. Daneben liegt das Cytozentrum, ein größerer, phasennegativer, unregelmäßig begrenzter, granulafreier Cytoplasmabezirk.

Serienphoto n und o: Jeweils nach 10 Minuten stellt sich eine Cytoplasmaausstülpung mit einem granulafreien Bezirk am Ende dar. In der abgerundeten Zelle sind weiter reichlich grobe, dunkle Granula, dazwischen unregelmäßig begrenzte Vacuolen sichtbar. Am unteren Zellpol ist ein breiter Saum im Cytoplasma granulafrei.

Serienphoto p: Nach 10 Minuten findet sich am unteren Zellpol nur noch ein kleiner, granulafreier Cytoplasmafortsatz. Im homogen grauen Bereich, von dem fadenförmige Ausläufer ausgehen, liegt bei 5 Uhr eine runde, dunkle Struktur.

Laufbild-Analyse Abb. 10:

Der Granuloblast zeigt bei Beobachtungsbeginn eine unregelmäßig begrenzte Zellstruktur, da er über die ganze Circumferenz in schneller Folge kleine Cytoplasmaausstülpungen aussendet und wieder zurücknimmt.

Etwa in der 10. Beobachtungsminute steigt bei 11 Uhr eine breitbasig angelegte Cytoplasmaausstülpung - vorerst ohne Granula - hervor, die innerhalb von 12 Minuten den sich länglich deformierenden Kern aufnimmt, bis sich am entgegengesetzten Zellpol eine größere Cytoplasmaausstülpung ergießt und gleichzeitig die den Kern enthaltende sich unter Zurückverlagerung des Kernes verkleinert. Innerhalb von 3 Minuten wird die zuletzt entstandene Cytoplasmaextension rückläufig, und zur gleichen Zeit entsteht am oberen Zellpol eine breitbasig angelegte Cytoplasmaausstülpung, die den Kern innerhalb 15 Minuten aufnimmt. Es entsteht eine taillierte Zelle mit dem Kern auf einer Seite. Im Verlauf der folgenden 10 Minuten zeigen sich am unteren Zellpolbereich mehrere kleine Extensionen, bis endlich eine davon breitbasiger angelegt wird, aufsteigt und im Verlauf der folgenden 12 Minuten ein hakenförmiges Gebilde entstehen läßt, während der große Zellkern wieder in die Zelle einwandert und sich abrundet. Innerhalb von etwa 30 Minuten kann man das kontinuierliche Zusammenfließen der beiden Grenzmembranen im Bereich der hakenförmigen Extension mit der Zelle beobachten, bis die Membranen lichtmikroskopisch verschmolzen sind. Etwa in der 95. Beobachtungsminute ergießt sich nochmals aus dem unteren Zellpol eine erst schmal, dann breitbasig angelegte Cytoplasmaausstülpung, in der sich am unteren Kernpol das Cytozentrum als hellgraues, ovales Gebilde darstellt, das über eine fadenförmige Brücke Verbindung zum Zellkern zu haben scheint. Nach etwa 28 Minuten verkleinert sich die Extension zunehmend, wobei am caudalen Pol eine hellgraue, granulafreie Struk-

tur sichtbar wird und 2 unregelmäßig begrenzte Vacuolen erkennbar sind.

Während des ganzen Beobachtungsverlaufes zeigt die Zelle Motilität unterschiedlicher Aktivität; Lokomotion kann nicht sicher registriert werden, wenn man die Verlagerung um eine Zelllänge (Teilbild b - e - g) nicht als solche bezeichnen will. Das Charakteristische an dieser Zellbeobachtung ist, daß die Zeiosefortsätze in dem für die Zeiose typischen abrupten, stoßartigen Bewegungsablauf entlang der ganzen Circumferenz der Zelle entstehen und wieder zurückgenommen werden können.

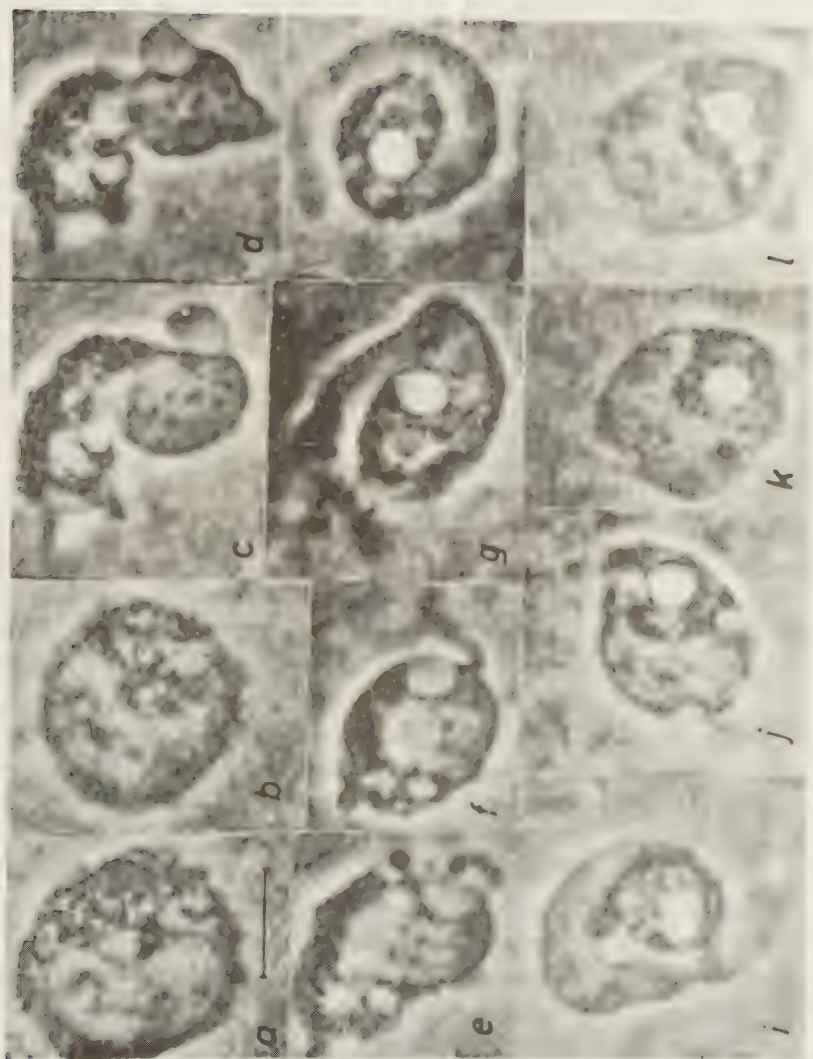


Abb. 11

Granuloblast mit Zeiosis

Film 1474/78, aus Knochenmark M. bei plasmazellulärer

Reticulose; Beobachtungsdauer: 12 Stunden 50 Minuten;

Phasenkontrast; Objektivvergrößerung: 70-fach. — = 10 μ m

Teilbild-Analyse Abb. 11:

- Serienphoto a: zeigt einen Granuloblasten mit bohnenförmigem Kern, der eine lockere, streifig-fleckige Struktur und eine deutlich abgebildete Kernmembran hat. Das Cytoplasma enthält reichlich dunkelgraue kleine Granula und dazwischen multiple kleine Aufhellungen. Deutliches Cytozentrum und die Kernbucht sind erkennbar. Die Circumferenz der Zelle zeigt feinste, kleine Cytoplasmafortsätze, die die Zellmembran leicht ausgefranst erscheinen lassen.
- Serienphoto b: Nach 175 Minuten hat sich die Zelle abgekugelt, ist kleiner und - wie aus der optischen Unschärfe abzuleiten ist - wahrscheinlich dicker geworden. Der Kern ist unverändert.
- Serienphoto c: Nach 98 Minuten ist eine hakenförmige Zellform mit einer sackartigen Cytoplasmaausstülpung, die außer dem Zellkern fast nichts enthält, entstanden. Rechts vom Kern liegt eine ovale homogen graue Ausstülpung von 5 μm Durchmesser. Das bogenförmig nach oben ausgezogene Cytoplasma ist grob granuliert und von 4 phasennegativen Vacuolen aufgehellte. Granulafreie, stengelförmige Cytoplasmaextensionen sind am Ende sichtbar.
- Serienphoto d: Nach 15 Minuten ist die granulafreie grauhomogene Membranausstülpung fast zur Hälfte in die Zelle einbezogen worden. Der Zellkern hat sich entrundet und liegt fast ohne Cytoplasma im unteren Bildausschnitt.
- Serienphoto e: Nach 15 Minuten ist der Kern in die Zelle zurückgerutscht, und die ovale, umgeformte Membranausstülpung ist in die Zelle mitein-

bezogen worden. Zwischen 3 und 5 Uhr sind 2 granulafreie Cytoplasmaextensionen entstanden.

Serienphoto f: Nach 15 Minuten ist der hellgraue, unregelmäßig begrenzte Bezirk in die fast abgerundete Zelle einbezogen. Bei 4 Uhr stellt sich eine stengelförmige Cytoplasmaextension dar.

Serienphoto g: Nach 15 Minuten stellt sich eine große Cytoplasmaextension dar, die von 3 Uhr gegen den Uhrzeigersinn in einer Schraubenbewegung um den ovalen Bezirk herumgewunden wird.

Serienphoto h: Nach 7 Minuten hat sich die granulafreie, den länglich deformierten Kern enthaltende Cytoplasmaextension weiter um die Zelle gelegt. Im Zentrum der Zelle liegt die granulafreie, jetzt völlig runde, phasennegative Aufhellung.

Serienphoto i: Nach 25 Minuten stellt sich eine zweite Rotationsbewegung einer sackförmigen, granulafreien, den Zellkern enthaltenden Cytoplasmaextension dar, die sich um eine kleine, bei 10 Uhr liegende Aufhellung gelegt hat. Der Zellkern ist fast um 180° mitgedreht. Im stark granulierten Cytoplasma liegt die phasennegative Aufhellung.

Serienphoto j: Nach 35 Minuten ist die Zelle wieder rund, die Membranen sind offensichtlich an der Berührungsstelle verschmolzen. Der ovale Zellkern ist fleckig-streifig strukturiert.

Serienphoto k: Nach 100 Minuten stellt sich eine abgerundete Zellform dar. Der nierenförmige Kern liegt exzentrisch, im Zentrum des granulalhaltigen Cytoplasmas stellt sich eine große runde phasennegative Struktur dar.

Serienphoto 1: Nach 270 Minuten ist die Zelle wieder scheinbar vergrößert. In der Kernbucht liegen nebeneinander drei unterschiedlich große, unregelmäßig begrenzte, phasennegative Zellstrukturen. Bei 7 Uhr ist eine blasenförmige, granulafreie Cytoplasmaextension sichtbar, die vom perizellulären Kontrasthalo überstrahlt wird und deshalb wie von der Zelle losgelöst erscheint.

Laufbild-Analyse Abb. 11:

Der Granuloblast zeigt zu Beobachtungsbeginn lebhaftes Oberflächenmotilität mit deutlicher Granulabewegung. Durch kleinste Cytoplasmaausstülpungen um ihre ganze Circumferenz scheint die Peripherie uneben. In den ersten 2 Beobachtungsstunden zeigt die Zelle keine auffällige Gestaltänderung, dann nimmt die Zellmotilität zu. Es steigen immer größere Cytoplasmaausstülpungen auf, die schnell wieder zurückfließen, der Zellkern wird unscharf, er scheint von der Zellunruhe angesteckt. Gegen Ende der nächsten 2 Stunden wird eine breitbasig angelegte Cytoplasmaausstülpung sichtbar, die den sich rundlich deformierenden Kern aufnimmt; gleichzeitig läßt die Zellmotilität nach, die Zellmembran wirkt glatt und eben. Der Zellkern geht in die Extension und füllt den unteren Bezirk der sackförmigen Ausstülpung ganz aus. An der anderen rechten Seite entsteht eine undulierende Membran, die sich in die granulafreie Zellmembranausstülpung des Teilbildes c umwandelt. Nach etwa 90 Minuten beginnt sich die Cytoplasmaextension kontinuierlich zu verkürzen unter gleichzeitiger Einbeziehung der Membranausstülpung, bis diese innerhalb der Zellkonturen liegt (Teilbild f). Bis zu dieser makroskopischen Membraneinziehung vergehen etwa 20 Minuten. Nun steigt unterhalb dieses Bezirkes eine stengelförmige Cytoplasmaausstülpung auf, die sich in cranialer Richtung dicht um die äußere Zellperipherie schlingt und gleichzeitig den sich länglich deformierenden Zellkern aufnimmt. Innerhalb der nächsten 20 Minuten fließt die sackförmige Cytoplasmaausstülpung in einer Rotationsbewegung um das Restcytoplasma herum, bleibt diesem dicht angelagert und stellt sich für wenige Minuten als runde Zelle dar. Innerhalb der nächsten 35 Minuten vollzieht die Zelle noch einmal eine Rotationsbewegung um eine bei 9 Uhr liegende Vacuole und formiert sich anschließend wieder als

völlig abgerundete, intakte Zelle, die in ihrem Cytoplasma 3 phasennegative runde Strukturen unterschiedlicher Größe enthält. Die größte Struktur ist aus der undulierenden Membran hervorgegangen.

Für den Rest des Beobachtungsverlaufes von etwa 3 1/2 Stunden behält die Zelle ihre Kontur und sendet um ihre ganze Circumferenz multiple kleinste Cytoplasmaausstülpungen aus.

Der Granuloblast zeigt Motilität mit nur kurzer Lokomotion. Die schneckenförmige, linksdrehende Cytoplasmaausstülpung läßt die Zelle am Ort liegen. Das Zelosegeschehen läuft in der diesem Phänomen so typischen abrupten, stoßartigen Weise ab.

DISKUSSION UND BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

"Zeichnungen mikroskopischer Gegenstände sind fast niemals naturgetreu, sie sind immer schöner als das Original." Robert KOCH, 1881

Durch die Veröffentlichung von Photogrammen möchten wir das Ergebnis unserer Untersuchungen dem Beschauer zur objektiven Urteilsbildung vorlegen. Der subjektiven Interpretation bleibt zwangsläufig noch ein gewisser Spielraum, denn:

1. sehen wir im Phasenkontrastbild eine nur zweidimensionale Darstellung eines dreidimensionalen Objektes.
2. ist mit der Technik der "platten Kultur" nicht immer eine optimale Darstellungsschärfe der Zellstrukturen möglich. Liegt z.B. eine Zelle von 10 - 20 μm Durchmesser dem Deckgläschen nicht direkt an und ist sie außerdem noch abgerundet, so sind ihre Innenstrukturen (Kern, Chromosomen, Mitochondrien, Granula) nur unscharf zu erkennen. Die in dieser Arbeit behandelten Zeiosezellen zeichnen sich durch eine lebhaft Motilität aus, wodurch gelegentlich noch Bewegungsunschärfe hinzukommt.
3. hängt es von der Erfahrung und dem Wissen des Beschauers ab, die Strukturveränderungen der Zellen den verschiedenen Lebensphasen wie Entstehung, uneingeschränkte Vitalität und Degeneration zuzuordnen.

Seit 1960 sind bei circa 2.000 Lebendbeobachtungen 46 Zellen mit Zeiosis kinematographisch dokumentiert und dabei über 350 Stunden beobachtet worden. In den vorgelegten 5 Beispielen werden die verschiedenen Varianten im morphologischen Erscheinungsbild der Zeiosiszellen dargestellt.

3 Bewegungstypen lassen sich herausstellen:

- Typ I sendet amorphe, breitbasige Cytoplasmaextensionen nach allen Richtungen aus, entweder einzeln oder gleichzeitig, die von unterschiedlicher Größe und Gestalt sind und Zellbestandteile, z.B. Kern, Cytozentrum oder Granula, teilweise oder ganz aufnehmen (Abb. 6 und 10) können.
- Typ II sendet einen breitbasig angelegten Cytoplasmafortsatz aus, der ebenfalls alle Zellbestandteile aufnehmen kann, sich schneckenförmig um die Zellperipherie herumlegt (Abb. 7 und 11) und die ganze Zelle nachzieht.
- Typ III erinnert in seiner charakteristischen Anordnung der Zellstrukturen an den Bewegungstyp 3 der Granulocyten nach RIND (Abb. 9 und Abb. 7 f und g). Die Granuloblasten zeigen aber im Unterschied zu dem Granulocyten eine ovale Kernform, der granulafreie Cytoplasmabezirke am vorderen Zellpol führt keine undulierende Bewegung aus, und der Bürzel am Zellende ist viel größer.

Den 3 Typen sind folgende Faktoren gemeinsam, die uns dazu veranlassen, diese Form der Zellkinetik zusammenfassend als Zeiosis zu bezeichnen:

1. tritt die Zeiosis nur bei Zellen auf, die sonst sessil sind und wenig Oberflächenmotilität aufweisen.
2. zeigen fast alle Zellen im Anschluß an die Zeiosebewegung das Auftreten von phasennegativen Vacuolen im Cytoplasma.
3. unterscheiden sich die obigen Typen in ihrer Gestalt und in dem zeitlichen Ablauf der Bewegungsphänomene von den bisher bekannten Formen der Oberflächenmotilität und der Lokomotion.

ad 1: Die sessilen Zellen mit dem kinetischen Phänomen Zeiosis zeigen besonders lebhaft Motilität und durch die Zeiosis teilweise auch Lokomotion, d.h. sie wechseln ihren Standort. Diese Lokomotion unterscheidet sich aber von der in der Einleitung geschilderten Lokomotion zielgerichtet beweglicher, ausgereifter Zellen durch das Fehlen kontinuierlicher Fortbewegung. Die Lokomotion bei der Zeiosis erfolgt über einen ruckartig vorwärtsgestoßenen Cytoplasmafortsatz, dessen zwar meist granulafreie Frontseite breitflächig vorangeschoben wird, dem aber - im Gegensatz zur üblichen Lokomotion - undulierende Plasmamembranen fehlen.

ad 2: Fast alle dokumentierten Zellen weisen nach dem Zeioseereignis phasennegative Vacuolen auf, was bisher nur im Zusammenhang mit der Phagocytose und der Pinocytose beobachtet wurde. Nach ROSE steht die Zeiosis im Zusammenhang mit der Membranbewegung, die die Pinocytose und die Phagocytose einleiten.

ad 3: Im Zeitrafferfilm kommt das abrupte, ruckartige, äußerst dynamische Wesen der Zeiosis zum Ausdruck. Das Geschehen wirkt hastig, abgehackt, unharmonisch. Die Kinetik der Zeiosis ist bei den verschiedenen Zeiosetypen nicht different. Die Cytoplasmaausstülpungen können nach allen Richtungen von der Zellperipherie aufsteigen (Typ I) und wieder in die Mutterzelle zurückfließen, oder es kommt zu einer Verlagerung des Zellinhaltes (Typ II oder III), wodurch die Zelle ihre Form verändert.

Die Teilbild-Analyse ergibt, daß die kleineren Cytoplasmaausstülpungen innerhalb von 20 Sekunden, d.h. von einer Aufnahme zur anderen entstehen, die größeren schießen in wenigen Minuten hervor.

Zeioseextensionen können auch aus Blistern hervorgehen. Die von LETTRE bei der Fibroblastenmitose beschriebenen Blister, die auch bei den Granuloblastenmitosen häufig vorkommen (BOLL), unterscheiden sich von den Cytoplasmaextensionen der Zeiosis durch ihre Größe - sie sind kleiner als $20 \mu m^2$ - und durch ihre Form. Die Blister sind meist schmal und gestielt, granulafrei und enthalten keine nachströmenden Cytoplasmaeinschlüsse wie Granula, Cytozentrum oder Kern.

Ein wichtiges Charakteristikum der Zeiosis ist neben ihrer abrupten Form der Entstehung die Größe der Zeioseextension, die oft so große Teile der Zelle aufnehmen kann, daß der Standort der Zelle dadurch verändert wird, also eine beschränkte Lokomotion auftritt. Mehrmals beobachteten wir, daß alle Zellstrukturen einschließlich des Kernes und Cytozentrums in die Cytoplasmaausstülpung verlagert wurden und die Zelle sozusagen in die Zeioseextension rutschte (besonders beim Bewegungstyp II, (Abb. 7 d und 11 g - i). Gelegentlich wird die Zelle wieder zurückverlagert. Dann erinnert das Zurückfließen des Cytoplasmas an eine Gummihaut, die in sich zusammenschnurrt, wenn die Spannung - oder der Innendruck - nachläßt. Das Zurückfließen läuft mit der gleichen Geschwindigkeit wie das Ausgestoßenwerden ab.

Der Zellkern paßt sich in seiner Form der veränderten Zellform an. Dies geschieht in zeitlicher Koordination mit der Veränderung der Zellform. Gegebenenfalls deformiert er sich bei der Verlagerung in die Zeioseextension.

22 unserer dokumentierten Granuloblasten zeigten das Verhalten vom Typ I. 8 Granuloblasten verhielten sich zeitweise entsprechend dem Typ I und zeigten darüber hinaus vorübergehend den Typ II, wobei sowohl die Drehung nach rechts wie nach links beobachtet wurde. 12 Granuloblasten vom Typ III wurden beobachtet, von denen 9 Zellen zeitweise das Verhalten des Typ I zeigten, bei den 3 anderen Zellen setzte die Beobachtung erst ein, als sie sich

bereits zum Typ III formiert hatten. Die 4 Immunoblasten verhielten sich dem Typ I entsprechend.

Beim Vergleich unserer Untersuchungsergebnisse mit denen von ROSE über Zeiosis an tierischen Knochenmarkszellen finden wir, daß unser Typ I, der in fast allen Zeiosiszellen zu beobachten ist, ganz mit seiner Interpretation übereinstimmt. Eine direkte Abschnürung solcher Zeiosextensionen, wie sie von ROSE berichtet werden, konnten wir nicht beobachten. Verlagerungen von Zellstrukturen (Granula, Cytozentrum, Kern) und ihre teilweise Zurückverlagerung wurde von ROSE wie von uns registriert.

Über unsere Typen II und III, die im Anschluß an das Geschehen des Typs I auftraten, findet sich bei ROSE kein Hinweis. Da er keine Granuloblasten beobachtete, könnte es sich bei unseren Beobachtungen um eine spezifische Fähigkeit dieser Zellart handeln. Vielleicht nimmt der Granuloblast unter den besonderen Bedingungen der Zeiose die Bewegungsart der Lokomotion, die ihm normalerweise erst in reiferen Stadien zukommt, schon vorher auf.

ROSE induzierte das Zeiosisphänomen durch physikalische Maßnahmen in einer Zellophankultur. Wir glauben ebenfalls unsere Kulturtechnik der "platten Kultur" für dieses Phänomen mitverantwortlich, da durch die enge planparallele Kammer und den dosierten Druck, mit dem das Koagulum durch das Deckgläschen komprimiert wird, die notwendige Tiefe in Richtung auf die optische Achse, die für die Membranundulation der Pinocytose und der Phagocytose verantwortlich ist, oft nicht gegeben ist. Als Notmechanismus zur Nährstoffaufnahme tritt dann die Zeiosis auf.

Bei unseren phasenkontrastmikroskopischen Beobachtungen konnten wir keinen Anhalt dafür finden, daß die Zeiosis mit der Mitose im Zusammenhang steht, ebensowenig sahen wir die Entstehung von zweikernigen Zellen. Bei ROSE findet sich auch kein Hinweis dafür.

In jüngster Zeit konnten wir eine Zelle beobachten, die etwa 8 Stunden lang lebhafte Zeiose vom Typ I ausführte und danach noch einen vollständigen Mitosecyclus durchlief. ROSE berichtet von einer ähnlichen Beobachtung. Außerdem beobachteten wir einen Granuloblasten, der neben seiner lebhaften Zeiose vom Typ I eine Endomitose durchlief.

Es ist nun zu diskutieren, ob die Zeiosis als ein präfinaler Zustand der Zellen angesehen werden muß, denn von den 46 Zeiosezellen endeten 9 Zellen mit dem kinematographisch dokumentierten Zelltod (Abb. 7, Teilbild j). Die anderen Zellen zeigten bis zum Beobachtungsende 1 bis 5 Stunden nach der letzten Zeiosebewegung vitales Verhalten (Abb. 6, 9, 10 und 11). Wir nehmen an, daß die Zeiosis der Ausdruck einer abartigen vitalen Reaktion oder einer Krankheit der Zelle ist, die anstelle der normalen Stoffaufnahme unter bestimmten Kulturbedingungen eintritt.

Die Zeiosis sollte aber nicht als Vorbote des Zellunterganges betrachtet werden, ebensowenig wie die Krankheit eines vielzelligen Organismus immer zum Tode führen muß.

Da letztlich aber alle Zellen des Beobachtungspräparates unter unseren Kulturbedingungen nur für eine gewisse Zeit überleben können - ihr Sauerstoff- und Energiespeicher weist nur eine begrenzte Kapazität auf -, ist es nicht verwunderlich, daß von den Zeiosezellen ein Teil noch während unserer phasenkontrastmikroskopischen Beobachtung degenerierte.

ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde ein bei der Lebendbeobachtung an menschlichen Knochenmarkszellen auftretendes cytomorphologisch-kinetisches Phänomen bei 42 Granuloblasten, 4 Immunoblasten und phasenoptisch kinematographisch dokumentiert.

In Anlehnung an ähnliche Untersuchungen ROSES an tierischen Knochenmarkszellen haben wir das Phänomen Zeiosis genannt. Der Unterschied gegen die bekannten kinetischen Vorgänge der Motilität und der Lokomotion und anderer durch das Phasenkontrastmikroskop zu beobachtenden Lebensäußerungen der Zellen wie Stoffaufnahme, Zellteilung, Reifung, Bliesterbildung und Degeneration wird dargestellt.

An 5 Beispielen wird das Typische der Kinetik mit Hilfe von Serienphotos, der Laufbild- und der Teilbild-Analyse demonstriert und dabei 3 Typen herausgearbeitet, die das cytokinetische Wesen der Zeiosis charakterisieren. Den Typ I - breitbasige Zellfortsätze nach allen Seiten mit teilweiser Verlagerung von Zellstrukturen - hat ROSE schon beschrieben. Für den Typ II - Schneckenbewegung der Zelle - und für den Typ III - Verformung ähnlich der Granulocytenlokomotion -, die im Anschluß an den Typ I auftreten können, fanden sich bei ROSE keine Hinweise.

Die Zeiosis wurde von uns als pathologisches Verhalten der Zellen unter den besonderen Bedingungen unserer "platten Kultur" gedeutet. Wir beobachteten das Phänomen der Zeiosis an sogenannten sessilen menschlichen Knochenmarkszellen, den Vorstufen der Leukocyten, und an durch Phytohaemagglutinin-stimulierten Lymphocyten.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF,
Nr. 031-64-1 BIAD.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Boll, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
(Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966)
2. Boll, I.: Bewegungsstudien an nicht stimulierten und stimulierten Lymphocyten sowie Retothelsarkomzellen.
2. Arb.-Tagg. f. Leukocytenkulturen, Essen-Kettwig 1970
3. Gropp, A.: Stoffaufnahme von in vitro gezüchteten Zellen, unter besonderer Berücksichtigung von Phagocytose und Pinocytose.
Forschungsbericht (Westdeutscher Verlag, Köln-Opladen 1968)
4. Hiraki, K., T. Ofuji and Z. Watari: On the function of the megakaryocyte (motility, separation of the platelet, phagocytosis), observations both in idiopathic thrombocytopenie purpura and in normal adult.
Acta med. Okayama 10: 110 (1956)
5. Letterer, E.: Allgemeine Pathologie. Grundlagen und Probleme.
(Thieme, Stuttgart 1959)
6. Lewis, W. H.: Pinocytosis.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 49: 17 (1931)

7. Moore, D.H. and H. Ruska: The fine structure of capillaries and small arteries.
J. biophys. biochem. Cytol. 3: 457 (1957)
8. Palade, G. E.: zit. n. Gropp, A.: Stoffaufnahme von in vitro gezüchteten Zellen, unter besonderer Berücksichtigung von Phagocytose und Pinocytose.
Forschungsbericht (Westdeutscher Verlag, Köln-Opladen 1968)
9. Palade, G. E.: zit. n. Gropp, A.: Stoffaufnahme von in vitro gezüchteten Zellen, unter besonderer Berücksichtigung von Phagocytose und Pinocytose.
Forschungsbericht (Westdeutscher Verlag, Köln-Opladen 1968)
10. Rind, HJ.: Atlas der Phasenkontrasthaematologie.
(Akademie-Verlag, Berlin 1958)
11. Rose, G. G.: Cinemicrography in cell biology.
(Acad. Press, New York-London 1963)
12. Staubesand, J.: Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle. Sekretion und Exkretion.
(Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1965)
13. Stobbe, H.: Bewegungsformen der Leukocyten. Phasenkontrastmikroskopische Studie.
Med. Bild 6: 40 (1963)
14. Zollinger, H. U.: Cytologic studies with the phase microscope. I. The formation of "blisters" on cells in suspension

(potocytosis), with observations
on the nature of the cellular mem-
brane.

Amer. J. Path. 24: 545 (1948)

Frau Prof. Dr. med. Irene Boll möchte ich für die
freundliche Unterstützung bei der Anfertigung die-
ser Arbeit sehr herzlich danken.

LEBENS LAUF

Am 28. 8. 1932 wurde ich in Stegers geboren. 1948 wurde ich in Fürstenberg/Oder aus der neunten Klasse entlassen. Von 1948 - 1949 arbeitete ich in einem Photolabor. Von 1949 - 1952 war ich Lehrling in einer Herrenschniderei, legte 1952 die Gesellenprüfung ab und arbeitete 2 weitere Jahre in dem gleichen Betrieb. Von 1954 - 1956 besuchte ich eine medizinische Fachschule in Weimar. 1956 verlegte ich meinen Wohnsitz nach Berlin-West. Von 1956 - 1961 besuchte ich das Abendgymnasium der Peter A. Silbermann-Schule und legte dort 1961 meine Reifeprüfung ab.

Zum Sommersemester 1961 begann ich mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin und legte nach 12 Semestern 1967 das Staatsexamen ab.

Zum 1. 2. 1970 bekam ich die Approbation und bin im Moment im Städt. Krankenhaus am Mariendorfer Weg, Berlin, als Ärztin tätig.

1965 heiratete ich Herrn Klaus Wilfried Münch, in dieser Ehe wurden uns drei Kinder geboren.

